R. UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
13 DEC. 1939

144

G. LUCHETTI E L. SURIANI

TRASFORMAZIONI DETERMINATE NELLA COMPOSIZIONE DEL LATTE DA ALCUNI BLASTOMICETI ASPORIGENI DEL FORMAGGIO (Nota III)

Estratto dal *Bollettino della Facoltà di Agraria*
Vol. XIII - 1937 - XV

PREMIATO STABILIMENTO TIPOGRAFICO G. CURSI & FIGLI - 1937 XV

G. LUCHETTI e L. SURIANI

TRASFORMAZIONI DETERMINATE NELLA COMPOSIZIONE DEL LATTE DA ALCUNI BLASTOMICETI ASPORIGENI DEL FORMAGGIO (Nota III).

Riassunto: *Gli Autori hanno studiato il comportamento nel latte di 6 ceppi di Blastomiceti asporigeni isolati da formaggi pecorini italiani ed hanno analizzato al 7° ed al 15° giorno il latte fermentato con detti ceppi.*

Analogamente a quanto fu fatto da uno di noi (1) per altri Lieviti abbiamo voluto studiare gli effetti chimici della fermentazione del latte con un gruppo di Blastomiceti asporigeni (2) isolati da formaggi pecorini italiani di diversa provenienza.

Per quel che riguarda la morfologia e la fisiologia dei ceppi sperimentati rimandiamo alla Memoria precedentemente citata.

I ceppi che riguardano questo studio sono i seguenti:

Ceppo N. 1 – *Monilia nigra nomen nudum* (ancora allo studio per la determinazione speciologica)

„ „ 2 – *Trichosporon - Proteomyces* sp. (ceppo N. 3 della precedente Nota)

„ „ 3 – *Geotrichum candidum* Link

„ „ 4 – *Trichosporum - Proteomyces* sp. (ceppo N. 6 della precedente Nota)

„ „ 5 – *Torulopsis candida* (Saito) Lodder

„ „ 6 – *Torulopsis aëria* (Saito) Lodder

---

(1) – Luchetti G. – *Trasformazioni determinate nella composizione del latte dai Saccharomyces cerevisiae ed ellipsoideus.* – Nuovi Ann. dell' Agricoltura, **14**, 179, 1934.

Luchetti G. e Nanni T. – *Su di alcuni fermenti del formaggio e sulle variazioni da essi indotte nella composizione del latte.* Ibidem **15**, 17, 1935.

(2) – Luchetti G. – *Contributo allo studio della flora blastomicetica di alcuni formaggi pecorini italiani.* Atti Soc. Tosc. Sc. Naturali, Vol. 46, fasc. 3, p. 1, 1937.

Facciamo notare che fra i ceppi studiati manca la *Torulopsis aëria* (Saito) Lodder, varietà *parva* che nel frattempo si è perduta.

Per quel che riguarda la Tecnica analitica e le condizioni di esperienza rimandiamo alle precedenti Memorie, limitandoci ad osservare che per la ricerca dell' alcool etilico ci servimmo, anzichè del metodo BODLINDER modificato da BENEDICIT e NORRIS già precedentemente usato, del metodo PARSOUS MULLIKEN ([3]), limitando la ricerca al semplice saggio qualitativo; e per la glicerina, del metodo riportato da PARSOUS MULLIKEN ([4]), poichè questi metodi risultarono più adatti alla ricerca qualitativa di detti composti.

Le analisi del latte si fecero al 7° e 15° giorno anzichè al 5°, 10°, e 15° giorno come precedentemente.

L' inoculazione di ciascun ceppo non si fece in unico recipiente per le varie analisi, come altre volte fu fatto, ma in recipienti separati, per ovviare a cause di errore precedentemente riscontrate, relative alla difficoltà del prelevamento di un campione rispecchiante le condizioni normali di tutta la massa, per la presenza del coagulo.

Così non si sono avuti, come ad esempio si riscontrò per la fermentazione con *Saccharomyces cerevisiae* ed *ellipsoideus*, scarti nella quantità di sostanze azotate totali.

Nelle Tabelle I-VI, che seguono, riportiamo i risultati delle analisi, esprimendoli in grammi per litro di latte.

In questi risultati vi è da notare che è molto basso il contenuto iniziale di albumina del latte da noi usato. Tale scarsezza e il basso rapporto caseina : albumina ci dette il sospetto che ci fosse stato un errore nelle determinazioni iniziali, tanto che queste furono ripetute per altre due volte; il risultato di queste due però confermò pienamente quello precedente.

([3]) - PARSOUS MULLIKEN S. - *A method for the identification of pure organic compound.* Vol. I. p. 169, New York, 1905.

([4]) — Loco citato, pag. 166.

TABELLA I. – Risultati delle analisi eseguite su latte fermentato con *Monilia nigra*.

N.	Ricerca	Iniziale	7° giorno	15° giorno
1a	Grado di acidità	11,200	45, —	60,440
1b	Acidità totale (in acido lattico)	2,520	10,125	13,600
2	Grasso	35, —	25, —	17,500
3	Zucchero	55,929	42,250	42,180
4	Sostanze proteiche totali	34,560	34,240	34,781
5	Caseina	32,950	16,056	12,609
6	Albumina	1,610	—	—
7	Estratto secco	118,468	147,840	125,470
8	Ceneri	7,250	7,212	7,250
9	Alcool	—	—	+ +
10	Ammoniaca	—	—	0,101
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	0,052
12	Acidità fissa (in acido lattico)	—	—	13,523
14	Glicerina	—	—	+
15	Aldeide etilica	—	—	+
16	Acido formico	—	—	+
17	Acido acetico	—	—	+

TABELLA II. – Risultati delle analisi eseguite su latte fermentato con *Trichosporon–Proteomyces* sp. (ceppo N. 3)

N.	Ricerca	Iniziale	7° giorno	15° giorno
1a	Grado di acidità	11,200	15,—	43,—
1b	Acidità totale (in acido lattico)	2,520	3,375	9,675
2	Grasso	35,—	33,—	18,—
3	Zucchero	55,929	35,555	27,000
4	Sostanze proteiche totali	34,560	34,787	34,781
5	Caseina	32,950	32,010	10,888
6	Albumina	1,610	—	—
7	Estratto secco	118,468	117,870	125,700
8	Ceneri	7,250	7,241	7,249
9	Alcool	—	—	+
10	Ammoniaca	—	—	0,160
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	0,690
12	Acidità fissa (in acido lattico)	—	—	8,640
14	Glicerina	—	—	+
15	Aldeide etilica	—	—	+ +
16	Acido formico	—	—	—
17	Acido acetico	—	—	—

TABELLA III. – Risultati delle analisi eseguite su latte fermentato con *Geotrichum candidum*.

N.	Ricerca	Iniziale	7° giorno	15° giorno
1a	Grado di acidità	11,200	20, —	38,600
1b	Acidità totale (in acido lattico)	2,520	4,500	8,685
2	Grasso	35, —	29, —	28,500
3	Zucchero	55,929	32,200	25,000
4	Sostanze proteiche totali	34,560	34,810	34,156
5	Caseina	32,950	32,810	6,016
6	Albumina	4,610	—	—
7	Estratto secco	118,468	118,120	119,080
8	Ceneri	7,250	7,255	7,251
9	Alcool	—	—	+
10	Ammoniaca	—	—	0,404
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	0,120
12	Acidità fissa	—	—	8,505
14	Glicerina	—	—	—
15	Aldeide etilica	—	—	+
16	Acido formico	—	—	—
17	Acido acetico	—	—	+

TABELLA IV. – Risultati delle analisi eseguite su latte fermentato con *Trichoporon-Proteomyces* sp. (ceppo N. 6)

N.	Ricerca	Iniziale	7° giorno	15° giorno
1a	Grado di acidità	11,200	11,400	40,600
1b	Acidità totale (in acido lattico)	2,520	2,565	9,135
2	Grasso	35, —	33,250	23,500
3	Zucchero	55,929	?	25,810
4	Sostanze proteiche totali	34,560	34,462	34,250
5	Caseina	32,950	32,593	16,319
6	Albumina	1,610	—	—
7	Estratto secco	118,468	118,000	124,420
8	Ceneri	7,250	7,239	7,239
9	Alcool	—	—	+++
10	Ammoniaca	—	—	0,170
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	1,157
12	Acidità fissa (in acido lattico)	—	—	7,400
14	Glicerina	—	—	+
15	Aldeide etilica	—	—	+++
16	Acido formico	—	—	++
17	Acido acetico	—	—	+

TABELLA V. – Risultati delle analisi eseguite su latte fermentato con *Torulopsis candida*.

N.	Ricerca	Iniziale	7° giorno	15° giorno
1a	Grado di acidità	11,200	20,400	28,040
1b	Acidità totale (in acido lattico)	2,520	4,590	6,310
2	Grasso	35,—	27,500	22,—
3	Zucchero	55;929	31,299	27,200
4	Sostanze proteiche totali	34,560	34,562	35,000
5	Caseina	32,950	29,487	11,375
6	Albumina	1,610	—	—
7	Estratto secco	118,468	111,600	173,750
8	Ceneri	7,250	7,254	7,251
9	Alcool	—	—	+++
10	Ammoniaca	—	—	0,042
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	1,182
12	Acidità fissa (in acido lattico)	—	—	4,537
14	Glicerina	—	—	+
15	Aldeide etilica	—	—	++
16	Acido formico	—	—	++++
17	Acido acetico	—	—	?

TABELLA VI. – Risultati delle analisi eseguite su latte fermentato con *Torulopsis aëria.*

N.	Ricerca	Iniziale	7° giorno	15° giorno
1a	Grado di acidità	11,200	17, —	23,200
1b	Acidità totale (in acido lattico)	2,520	3,825	5,220
2	Grasso	35, —	31, —	24, —
3	Zucchero	55,929	35,206	30,750
4	Sostanze proteiche totali	34,560	34,125	34,565
5	Caseina	32,950	31,281	19,425
6	Albumina	1,610	—	—
7	Estratto secco	118,468	119,450	123,000
8	Ceneri	7,250	7,261	7,252
9	Alcool	—	—	+
10	Ammoniaca	—	—	0,113
11	Acidità volatile (in acido acetico)	—	—	1,244
12	Acidità fissa (in acido lattico)	—	—	3,353
14	Glicerina	—	—	+++
15	Aldeide etilica	—	—	+ +
16	Acido formico	—	—	++++
17	Acido acetico	—	—	+

Per quel che riguarda le caratteristiche macroscopiche ed organolettiche del latte, dopo la fermentazione, si fecero le osservazioni seguenti:

1) nel latte fermentato con *Monilia nigra*, coagulato fin dal 7° giorno, non si ebbe separazione di siero che verso il 10° giorno di fermentazione. Il coagulo che dapprima appariva molto fine divenne da ultimo grossolano, caseoso. Non si ebbe sviluppo di gas dalla fermentazione e la massa del latte emanava odore marcatissimo di buon formaggio.

2) il *Trichosporon-Proteomyces* (ceppo 3) che al 7° giorno non aveva coagulato, al 15° aveva coagulato con separazione del siero. Il coagulo era in parte superficiale ed in parte profondo. Il latte fermentato non sviluppava che scarse quantità di gas e non aveva odori particolari.

3) il *Geotrichum candidum* al 7° giorno aveva già coagulato il latte, al 15° giorno aveva prodotto anche la separazione del siero con affioramento del coagulo sotto forma di grumi formati da coagulo avvolto da membrana pseudomiceliare del fungo. Non produsse mai gas e dal prodotto della fermentazione emanava un odore poco gradevole ed indefinibile.

4) il latte inoculato con *Trichosporon-Proteomyces* (ceppo 6) non era ancora coagulato al 7° giorno ma lo era al 15°. Il coagulo si era separato, in parte al fondo, ma per la maggior parte in superficie. Quello affiorato si era trasformato in una massa caseosa con numerose bolle di gas all'interno. Lo sviluppo di gas incominciò verso il 9° giorno. Il latte al 15° giorno aveva un leggero e gradevole odore di formaggio.

5) la *Torulopsis candida* coagulò il latte fra l'8° ed il 9° giorno. Al 15° giorno il coagulo si era separato dal siero parte colando al fondo, parte affiorando ed emanando leggero odore di formaggio. Non si ebbe sviluppo di gas.

6) la *Torulopsis aëria* ebbe lo stesso comportamento della *T.*

TABELLA VII. – Curva di distillazione degli acidi volatili del latte fermentato con:

Frazione di distillato	*Monilia nigra*		*Trichosporon Proteomyces* (ceppo N. 3)		*Geotrichum candidum*		*Trichosporon Proteomyces* (ceppo N. 6)		*Torulopsis candida*		*Torulopsis aëria*	
	% della acidità volatile totale											
	parz.	progr.	parz.	progr.	parz.	progr.	parz.	progr.	parz.	progr.	parz.	progr.
1	13,3	13,3	24,3	24,3	32,1	32,1	7,8	7,8	6,4	6,4	8,3	8,3
2	8,9	22,2	13,2	37,5	13,3	43,4	8,1	15,9	11,3	17,7	7,1	15,4
3	6,6	28,8	11,9	49,4	9,4	52,8	8,–	23,9	7,2	24,9	7,6	23,–
4	6,7	35,5	10,5	59,9	5,7	58,5	8,1	32,–	7,3	32,2	7,–	30,–
5	6,7	42,2	9,4	69,3	5,7	64,2	8,8	40,8	8,–	40,2	9,3	39,3
6	6,7	49,9	8,–	77,3	5,7	69,9	9,2	50,–	9,1	49,3	7,5	47,8
7	8,9	58,8	7,2	84,5	5,7	75,6	9,3	59,3	9,1	58,4	9,3	57,1
8	8,9	67,7	6,2	90,7	7,5	83,1	10,7	70,–	10,–	68,4	10,5	67,6
9	8,9	76,6	5,1	95,8	7,5	90,6	12,5	82,5	12,6	81,–	11,8	79,4
10	23,4	100,–	4,2	100,–	9,4	100,–	17,5	100,–	19,0	100,–	20,6	100,–

candida differenziandosi per un odore di formaggio molto più sensibile.

Oltre le analisi di cui sopra, si eseguirono le ricerche relative alle curve di distillazione dell' acidità volatile per la ricerca degli acidi volatili prevalenti nel latte fermentato.

Nella tabella VII riportiamo le curve di distillazione dell'acidità volatile dei vari prodotti di fermentazione.

I risultati su riportati mostrano che si è in presenza di tipi diversi di acidità. Nel primo tipo (*Trichosporon - Proteomyces* ceppo 3) si ha prevalenza netta di acidi superiori i quali si avvicinano, nella loro curva di distillazione, ad un miscuglio di 1 parte di acido valerianico con 1,5 parti di acido propionico; nel secondo tipo (*Trichosporon - Proteomyces* ceppo 6) si ha un miscuglio in cui prevalgono l'acido formico e l'acido propionico, nel rapporto di circa 2,5 : 1, con tracce di acido acetico; nel terzo tipo (*Torulopsis candida e T. aëria*) si hanno prevalentemeute acido formico e butirrico (nei rapporti rispettivamente di 4:1 e 7:1 all'incirca) pure accompagnate da tracce di acido acetico; nel quarto tipo si ha un miscuglio assai complesso di acidi volatili di cui difficilmente si riesce ad individuare i singoli componenti: tali sono le acidità volatili prodotte da *Monilia nigra* e da *Geotrichum candidum*, il primo dei quali produce acido formico ed acetico accanto ad acidi superiori; il secondo acido acetico ed acidi superiori, in quantità maggiori, questi, nel secondo che non nella prima.

CONCLUSIONI

Le conclusioni che scaturiscono da questo terzo gruppo di esperienze sulla fermentazione blastomicetica del latte sono le seguenti:

I – Tutti i ceppi studiati si sviluppano nel latte coagulandolo, fra il 5° ed il 10° giorno, a temperatura di 24°26° C., ed acidificandolo.

II – I Blastomiceti esaminati producono più o meno notevoli

quantità di acidi, sia fissi che volatili, il cui rapporto al 15° giorno è il seguente:

	Monilia nigra	*Trichosporon Proteomyces* (ceppo 3)	*Geotrichum candidum*	*Trichosporon Proteomyces* (ceppo 6)	*Torulopsis candida*	*Torulopsis aëria*
acidi fissi	99,4%	89,3%	97,9%	81,-%	71,9%	64,2%
„ volatili	0,6%	10,7%	2,1%	19,-%	28,1%	35,8%

III – Tutti i Blastomiceti di cui sopra sono capaci di attaccare e saponificare il grasso del latte in grado maggiore o minore e l'intensità dell'attacco sembra aumentare col tempo.

IV – Lo stesso può dirsi per il lattosio che fu da alcuni consumato per oltre la metà.

V – Tutte indistintamente le forme cimentate si dimostrarono capaci di attaccare la caseina il cui consumo al 15° giorno ammontava alle seguenti percentuali:

Monilia nigra	62 %
Trichosporon–Proteomyces (c. 3)	67 %
Geotrichum candidum	82 %
Trichosporon–Proteomyces (c. 6)	50 %
Torulopsis candida	66 %
Torulopsis aëria	40 %

VI – Tutti i ceppi spinsero la scissione di una parte della proteine fino a liberare ammoniaca.

VII – La presenza di alcool etilico al 15° giorno di fermentazione

può ritenersi un fatto costante, in quanto fu sempre rinvenuto nei liquidi fermentati.

VIII - Alcune forme si dimostrarono capaci di produrre fino al 35,8% di acidità volatile rispetto a quella totale *(Torulopsis aëria)*.

IX - Non costante è la presenza di aldeide etilica che non fu rinvenuta tra i prodotti della fermentazione del latte con *Monilia nigra*.

X - Non costante è pure la presenza di glicerina, ciò che non meraviglia essendosi molti ceppi dimostrati capaci di utilizzarla come sorgente di carbonio.

Pisa, Facoltà di Agraria della R. Università
Istituto di Patologia vegetale e Microbiologia agraria

(Presentata il 16 agosto 1937 - XV)